



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus* “EUCALIPTO”, SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC25923
COMPARADO CON OXACILINA**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR

AMAYA GARAY DIEGO ALEJANDRO

ASESORES

DRA. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

MG. BLGO. JAIME POLO GAMBOA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

Trujillo – Perú

2018

DEDICATORIA

A MI MADRE **VIOLETA GARAY FRANCISCO**, UNA GRAN MUJER LA CUAL ME IMPULSA A ALCANZAR MIS METAS.

A MI PADRE **VICTOR AMAYA SÁNCHEZ**, UN GRAN HOMBRE, QUIEN SIEMPRE ME INCULCÓ LA RESPONSABILIDAD EN EL TRABAJO.

A MI HERMANO **VICTOR AMAYA GARAY**, MI MEJOR AMIGO, QUE JAMÁS DEJA DE CREER EN MÍ.

DIEGO ALEJANDRO AMAYA GARAY

AGRADECIMIENTO

**A DIOS: POR DARME LA FUERZA DE SUPERAR
CADA ADVERSIDAD EN ESTE CAMINO**

**A MIS ASESORES: Dra. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE
SANCHEZ Y Mg. JAIME ABELARDO POLO GAMBOA**

**A LA UNIVERSIDAD: POR ACOGERME
DURANTE ESTA IMPORTANTE ETAPA DE MI
VIDA**

DIEGO ALEJANDRO AMAYA GARAY

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, **DIEGO ALEJANDRO AMAYA GARAY** con DNI **47534019**, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada **Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923 Comparado con oxacilina**, son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, de diciembre del 2018

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus* “eucalipto” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC25923 COMPARADO CON OXACILINA**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para el título Profesional de Médico Cirujano.

DIEGO ALEJANDRO AMAYA GARAY

INDICE

PAGINAS PRELIMINARES

PÁGINA DEL JURADO	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	iv
PRESENTACIÓN.....	v
INDICE.....	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	1
1.2. TRABAJOS PREVIOS.....	2
1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA	3
1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	5
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	5
1.6. HIPÓTESIS.....	6
1.7. OBJETIVOS.....	6
1.7.1. OBJETIVO GENERAL.....	6
1.7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
II. MÉTODO.....	7
2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	7
2.2 VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN	7
2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA	9
2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD	10
2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS.....	10
2.6 ASPECTOS ÉTICOS:.....	10
III. DISCUSION.....	13
V. CONCLUSIÓN.....	16
VI. RECOMENDACIONES.....	17
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
VIII. ANEXOS.....	21

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” sobre *Staphylococcus aureus*, en las siguientes diluciones (100%, 75%, 50%, 25%, comparado con oxacilina (1µg) y un control neutro con suero fisiológico DMSO). Se aplicó un estudio experimental, y se realizaron 10 repeticiones por cada grupo estudiado, encontrándose que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” tuvo mayor efecto inhibitorio a la concentración de 100% (17,3 mm, DS: $1,49 \pm 0,47$, IC: 95%: [16 – 18], entre los intervalos de 15 – 20 mm) considerado sensible según los estándares del “Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco de Difusión” del MINSA (Resistente: ≤ 10 , Intermedio: 11 – 12, Sensible: ≥ 13). Sin embargo no supera los valores de la oxacilina (35,4 mm, DS: $1,07 \pm 0,34$, IC: 95%: [34 – 36], entre los intervalos de 34 – 37 mm). Estadísticamente según la prueba de ANOVA (0,000), demuestra que los resultados son altamente significativos y la prueba Post ANOVA de Tukey, mostró la homogeneidad de los grupos estudiados y el grupo que tuvo mayor efecto que fue primero para oxacilina, seguido del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” al 100%. Se concluye que in vitro el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* “eucalipto”, presentan efecto antimicrobiano, pero que no supera al manejo estándar con oxacilina (1µg). Este aceite esencial podría utilizarse como terapia complementaria junto con oxacilina para el manejo de *Staphylococcus aureus*.

PALABRAS CLAVE: Efecto antibacteriano: hoja *Eucalyptus globulus*, *Staphylococcus aureus*, *Eucalyptus globulus* composición, *Eucalyptus globulus* aceite esencial.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the antimicrobial effect of essential oil of *Eucalyptus globulus* "eucalyptus" leaves on *Staphylococcus aureus* in dilutions of 100%, 75%, 50%, 25%, compared to oxacillin (1µg) and neutral control with DMSO. An experimental study was applied, and 10 repetitions were made for each group studied. It was found that the essential oil of *Eucalyptus globulus* "eucalyptus" had a greater inhibitory effect at 100% concentration (17.3 mm, DS: 1.49 ± 0.47 , IC: 95%: [16-18], between the intervals 15 - 20 mm) considered susceptible according to the standards of MINSA "Procedural Manual for Antimicrobial Susceptibility Testing using the Disc Diffusion Method" (Resistant: ≤ 10 , Intermediate 11-12, Susceptible: ≥ 13). However it does not exceed the values of oxacillin (35.4 mm, DS: 1.07 ± 0.34 , IC: 95%: [34-36], between the intervals 34 - 37 mm). Statistically, according to the ANOVA test (0,000), it is shown that the results are highly significant and Tukey ANOVA post-test showed the homogeneity of the study groups and that the group with a greater effect was the one using oxacillin, followed by the one with essential oil of *eucalyptus globulus* "eucalyptus" at 100%. It is concluded that in this in vitro study the essential oil of *Eucalyptus globulus* "eucalyptus" exhibits an antimicrobial effect, but it does not exceed the standard treatment with oxacillin (1µg). This essential oil could be used as an adjunctive therapy alongside oxacillin for the treatment of *Staphylococcus aureus*.

KEYWORDS: Antibacterial effect, *Eucalyptus globulus* leaf, *Staphylococcus aureus*, *Eucalyptus globulus* composition, essential oil of *Eucalyptus globulus*

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

El *Staphylococcus aureus* (SA), es una bacteria Gram positiva perteneciente a la familia de los *Staphylococcaceae*, su distribución a nivel mundial es amplia y puede ingresar al organismo por distintas vías (cutánea, digestiva, respiratoria, etc.), teniendo la capacidad de producir una considerable cantidad de infecciones dependiendo del sistema que se vea comprometido, dentro de las cuales tenemos: impétigo, neumonía, osteomielitis, bacteriemia, etc y esto debido a la producción de una cápsula mucoide externa que aumenta su adherencia al organismo, por consiguiente, su capacidad infecciosa¹.

Alrededor del mundo se estimó que aproximadamente dos billones de personas presentan infecciones por *Staphylococcus aureus*, dentro de las cuales un 1% de ellas son resistentes a meticilina.² En Buenos Aires – Argentina, en un estudio realizado entre 2009 y 2011 en el “Hospital Juan A. Fernández”, se aisló SA en 63,8% del total de pacientes seleccionados de los cuales sólo una cuarta parte era sensible a meticilina.³ El Ministerio de salud del Perú (MINSA) reportó en el Informe de la resistencia antimicrobiana en bacterias de origen hospitalario del 2012 que de los pacientes infectados con SA, un 84% presentó resistencia a meticilina, según su Informe de la resistencia antimicrobiana en bacterias de origen hospitalario⁴

El ser humano puede ser portador de la bacteria, se halla muchas veces en la mucosa nasal, sin que necesariamente esta esté causando infecciones. Un estudio llevado a cabo el 2012 en una población en Lima – Perú, se aisló SA en el 24,6% de la población de SA y de éstos un 0,9% fueron resistentes a meticilina, lo cual indicó que hasta una cuarta parte de la población es susceptible a una infección dada por SA.²

Teniendo esto en cuenta, es importante buscar nuevas alternativas terapéuticas para el manejo de infecciones por este agente etiológico, que va presentando cada vez mayor resistencia a los antibióticos de uso habitual.

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Ibarra S. (Ecuador, 2014) estudió el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* en distintas diluciones comparado con hipoclorito de sodio al 2,5% y gluconato de clorhexidina al 2% frente a *Enterococcus faecalis*. Los resultados fueron medidos a las 24 y 48 horas, evidenciando que el mayor efecto antimicrobiano fue el del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 100% de concentración con el halo de inhibición máximo de 14,8 mm. Se concluyó que *Eucalyptus globulus* tiene efecto antimicrobiano frente a *Enterococcus faecalis*.⁵

Yáñez X. et al. (Colombia, 2012) analizaron el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* comparado con *Eucalyptus camaldulensis* (eucalipto rojo) en distintas diluciones sobre determinado grupo de microorganismos. Los resultados mostraron que *E. globulus* en concentración al 60% presenta el mayor efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus* con un halo de inhibición de 6 mm, además de presentar una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 12,4 µg/mL, el menor valor obtenido de las bacterias en estudio, concluyendo así, que no son requeribles grandes cantidades de aceite esencial de *E. globulus* para genera un efecto antimicrobiano frente a *S. aureus*.⁶

Alvarado J. et al. (Perú, 2014) evaluaron el efecto antubacteriano del extracto hidroalcohólico de *Eucalyptus globulus* en distintas concentraciones sobre cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas. Los resultados obtenidos mostraron el mayor efecto antibacteriano con la concentración al 50% presentando un halo inhibitorio promedio de 19,29 mm.⁷

Alzamora L. et al. (Perú, 2001) comparó la sensibilidad de ciertos antimicrobianos y plantas aromáticas frente a determinado grupo de bacterias en un estudio in vitro, los resultados mostraron una sensibilidad de 88,8% para *Eucalyptus globulus*, se definió como sensibilidad límite en base a la medida del

halo de inhibición de crecimiento de microorganismos (HCIM), la cual fue de 13 mm frente a *Staphylococcus aureus*, concluyendo que *Eucalyptus globulus* tiene efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*.⁸

1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

Cocos Gram positivos de un diámetro aproximado de 0,5 a 1,5 μm conforman el género *Staphylococcus*, agrupados ya sea de forma única, en pareja, tétradas, cadenas cortas o racimos. Etimológicamente *Staphylococcus* proviene del griego *staphyle* que significa racimo de uvas, describiendo los cocos responsables del proceso inflamatorio y supurativo. Son bacterias inmóviles, no esporuladas, carecen de cápsula, aunque ciertas cepas sí desarrollan una cápsula y son anaerobias facultativas. En su mayoría producen catalasa (enzima encargada de escindir peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre); característica que la diferencia de los géneros *Enterococcus* y *Streptococcus* que carecen de catalasa, poseen además ácidos teicoicos dentro de su pared celular. Existen 32 especies dentro del género *Staphylococcus*, 16 de las mismas se encuentran en los seres humanos formando parte de la flora cutánea y mucosas, tienden a ser patológicas en caso de predisposición e inmunosupresión del huésped. Cada especie posee una ubicación anatómica predeterminada en su colonización.⁹

La especie *Staphylococcus aureus* se coloniza principalmente en la mucosa nasal del hospedador, es responsable de infecciones adquiridas tanto a nivel comunitario como hospitalario afectando piel, tejidos blandos y tracto respiratorio bajo, pudiendo generar complicaciones severas como: bacteremias asociada a catéter venoso central, neumonía por ventilación mecánica, osteomielitis, endocarditis. Además de síndromes como: choque tóxico, piel escaldada.¹⁰

La patogenicidad en gran parte se debe a sus factores de virulencia que contribuyen a su diseminación bien sea de forma local o sistémica a través de la vía hemática. Se da mediante dos mecanismos: 1) El cese de la continuidad e integridad de la capa epitelial, facilitando la interacción del microorganismo con elementos de la matriz extracelular por medio de la intervención de diferentes

adhesinas, que son moléculas localizadas en la superficie de la bacteria denominadas CRAMMs (moléculas adhesivas de matriz que reconocen componentes de superficie microbiana) encargadas de la adhesión a tejidos del huésped y comienzo de la colonización. Este complejo promueve la concentración bacteriana en focos localizados denominados biofilms, con el propósito de restringir la respuesta inmune del huésped y para su consiguiente propagación por medio del torrente sanguíneo. 2) La capacidad de impedir la aparición de anticuerpos específicos y células del sistema inmune, a través de la excreción de proteínas formadoras de poros, cuya labor es generar la muerte de sus células blancas.¹⁰

Una vez dada la infección en el organismo, su manejo es dependiente a la sensibilidad a meticilina o su resistencia, mediada por 3 mecanismos: sobreproducción de β -lactamasa, alteración de las proteínas ligadoras de penicilina (PBP) y resistencia intrínseca de meticilina. El tratamiento de las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* incluye la utilización de penicilinas isoxazólicas como la oxacilina como gold estándar en el caso de sensibilidad a meticilina, para los casos de resistencia se tienen opciones terapéuticas como: Daptomicina, Cotrimoxazol, Vancomicina, Linezolid, entre otras; las cuales serán empleadas dependiendo del foco de infección y la gravedad del mismo.¹¹

La oxacilina es un isoxazolilpenicilina perteneciente a la familia de los β -lactámicos, su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la cuarta fase (final) de la síntesis de mureína, polímero que evita la lisis de la bacteria en un medio de mayor presión osmótica, formando un enlace covalente entre una serina de su centro activo y la transpeptidasa presente en las proteínas fijadoras de penicilina (PBP) de la bacteria, evitando la transpeptidación y generando la inactivación de la enzima de forma irreversible.¹²

Para poder hablar del manejo no farmacológico, se tiene que hacer mención de la medicina complementaria y alternativa, la cual es definida por el Centro Nacional de Medicina Tradicional y Alternativa (NCCAM) como “un conjunto de

sistemas, prácticas y productos médicos y de atención de la salud no pertenecientes a la medicina convencional”.¹³

La fitoterapia forma parte de los métodos no convencionales de manejo de enfermedades, contempla el uso de plantas medicinales procesadas por distintos mecanismos, en el presente estudio, mediante aceite esencial o volátil, de un olor intenso característico y pudiendo ser obtenidos por procesos como arrastre de vapor de agua por ejemplo.¹⁴ El eucalipto se encuentra en este grupo, el cual taxonómicamente se clasifica dentro del reino *Plantae*, división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsida*, orden *Myrtales*, familia *Myrtaceae*, género *Eucalyptus* y especie *Globulus*; descrita por primera vez en 1800 por el botánico francés Jacques Julien Houtou de La Billardiére.¹⁵

1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” tiene efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina, a 1 µg, en un estudio in vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Es importante estudiar nuevas alternativas de tratamiento naturales que no presenten muchos eventos adversos, en el presente estudio interesó evaluar el manejo de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*, mediante el uso del aceite esencial del *Eucalyptus globulus*, ya que actualmente se maneja mucho el término medicina complementaria, como una iniciativa que tiene cada vez mayor acogida; esto implica un tratamiento alternativo a los métodos convencionales, dentro de este enfoque se encuentra la fitoterapia, la cual promueve la utilización de plantas o sus productos que, gracias a los principios activos contenidos en las mismas, con base científica contribuyen al manejo de determinadas patologías.

Teniendo esto en cuenta, es necesario buscar nuevas estrategias terapéuticas que no sólo brinden ayuda al paciente, sino que a su vez favorezca al médico

tratante brindándole más opciones de tratamiento, lo cual podría significar un manejo conjunto yendo de la mano con los métodos convencionales de tratamiento y de esta manera efectivizar el manejo de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* y en casos excepcionales brindarse como una alternativa terapéutica.

1.6. HIPÓTESIS

H_1 : El aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” tiene efecto antimicrobiano sobre *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina 1µg, en un estudio in vitro.

H_0 : El aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” no tiene efecto antimicrobiano sobre *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina 1µg, en un estudio in vitro.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar si el aceite esencial de la hoja de ***Eucalyptus globulus*** “eucalipto” tuvo efecto antimicrobiano sobre cepas de ***Staphylococcus aureus* ATCC 25923** comparada con oxacilina 1µg, en un estudio in vitro.

1.7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Se estableció el efecto antimicrobiano de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” al 100%.
- Se estableció el efecto antimicrobiano de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” al 75%.
- Se estableció el efecto antimicrobiano de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” al 50%.

- Se estableció el efecto antimicrobiano de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” al 25%.
- Se determinó el efecto antimicrobiano de oxacilina a 1 microgramo sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II. MÉTODO

2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Tipo de investigación: Básico

Diseño de investigación: Experimental con repeticiones múltiples, post prueba.

RG1:	x₁	O₁
RG2:	x₂	O₂
RG3:	x₃	O₃
RG4:	x₄	O₄
RG5:	x₅	O₅
RG6:	x₆	O₆

Donde:

RG: Grupos de estudio: 06

x₁: Dilución del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 100%.

x₂: Dilución del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 75%.

x₃: Dilución del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 50%.

x₄: Dilución del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 25%.

x₅: Tratamiento estándar, oxacilina a 1µg.

x₆: Control negativo: suero fisiológico DMSO.

2.2 VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN

Variable Independiente: Tratamiento antimicrobiano en *Staphylococcus aureus*

- Tratamiento no farmacológico: El aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto”.

b) Tratamiento farmacológico: Oxacilina 1µg.

Variable dependiente: Efecto antimicrobiano sobre *Staphylococcus aureus*

a) Efecto antimicrobiano: aumento del halo de inhibición: ≥ 13 mm

b) No efecto antimicrobiano: disminución del halo de inhibición: < 13 mm

Operacionalización de variables:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Tratamiento antimicrobiano para <i>Staphylococcus aureus</i>	Para el tto de <i>Staphylococcus aureus</i> se utiliza: Tratamiento no farmacológico con eucalipto ¹⁶ Tratamiento farmacológico con oxacilina ¹¹	Será dividida en las siguientes diluciones: a) Eucalipto al 100% b) Eucalipto al 75% c) Eucalipto al 50% d) Eucalipto al 25% e) Oxacilina f) Agua destilada	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
V. D: Efecto antimicrobiano	Tiene efecto antimicrobiano si hay aumento del halo de inhibición según el método de Kirby Bauer ¹⁷	Según el MINSA ¹⁷ Se considera eficaz si: a) Sensible ≥ 13 mm b) Intermedio 11 – 12 mm c) Resistente ≤ 10 mm	Si efectivo ≥ 13 mm No efectivo < 13 mm	Cualitativa nominal

2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN: Fueron todas las cepas estándar de *Staphylococcus aureus* cultivadas en el laboratorio de la Escuela de Medicina de la Universidad César Vallejo.

MUESTRA: Para obtener el número de muestra se utilizó la fórmula para comparación de dos promedios ¹⁸ se obtuvo la muestra de 10 repeticiones por cada grupo de estudio. (Ver Anexo 01)

Unidad de análisis: Cada uno de los cultivos de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

Unidad de muestreo: Cada placa Petri con los cultivos de las cepas.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión: Todas las cepas que evidenciaron crecimiento a las 24 horas.

Criterios de exclusión:

- Cultivos contaminados.
- Cultivos que inertes, que no evidenciaron crecimiento bacteriano.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Consistió en la observación del crecimiento bacteriano de las cepas en las placas Petri.

PROCEDIMIENTO: (Ver anexo 02). El eucalipto "*Eucalyptus globulus*" fue recolectado en el mes de noviembre del 2017 en el distrito de Otuzco, departamento de La Libertad, la identificación se realizó comparando con las muestras determinadas y registradas en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo.

Para obtener el aceite esencial se utilizó la destilación por arrastre con vapor¹⁹ y para la prueba de sensibilidad antimicrobiana se usó el método de disco de difusión.¹⁷

INSTRUMENTO: Se utilizó una ficha de recolección de datos, donde se registró el número de placas, con las diluciones y la medida de los halos de inhibición. (Ver Anexo 03).

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

El instrumento fue validado por 03 profesionales en biología y medicina. Las pruebas de laboratorio estuvieron enmarcadas en los protocolos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC).²⁰

2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

La información transcrita en la ficha de recolección de datos, fue procesada en la base de datos en el programa SPSS versión 25 para Windows. Para el análisis estadístico de la información se aplicó el análisis de la varianza (ANOVA) y la prueba de homogeneidad POST ANOVA de Tukey para determinar la eficacia antibacteriana en relación a los promedios de los halos de inhibición.

2.6 ASPECTOS ÉTICOS:

Se tuvo en cuenta normas de bioseguridad según la OMS adecuadas para el trabajo en laboratorio para protección personal²¹ (Ver anexo 04).

RESULTADOS

Tabla 1: Efecto antimicrobiano del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina 1µg, en un estudio in vitro.

Diámetro de halo de inhibición

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
100%	10	17,30	1,494	,473	16,23	18,37	15	20
75%	10	8,30	,823	,260	7,71	8,89	7	9
50%	10	6,40	,699	,221	5,90	6,90	5	7
25%	10	6,70	,675	,213	6,22	7,18	5	7
OXACILINA	10	35,40	1,075	,340	34,63	36,17	34	37
Total	50	14,82	11,190	1,582	11,64	18,00	5	37

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

Tabla 2: Efecto antimicrobiano del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina 1µg, en un estudio in vitro.

ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA)

ANOVA

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6090,280	4	1522,570	1519,194	,000
Dentro de grupos	45,100	45	1,002		
Total	6135,380	49			

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

Tabla 3: Efecto antimicrobiano del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina 1µg, en un estudio in vitro.

Tukey

ensayos

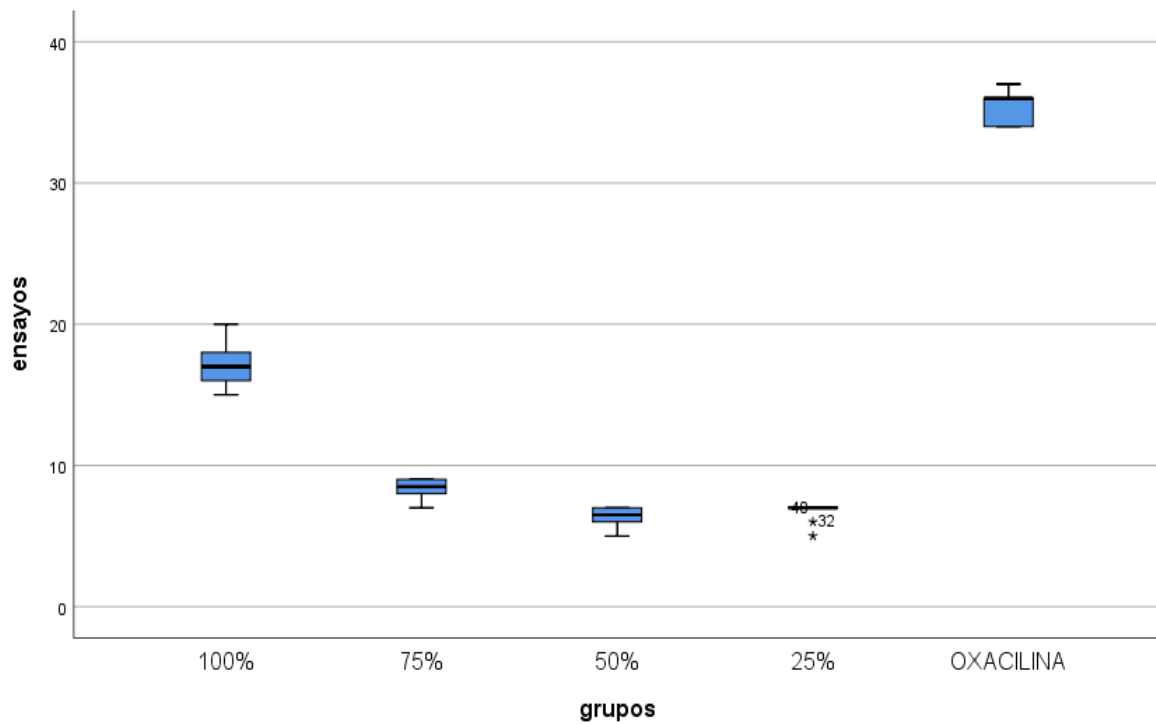
Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
50%	10	6,40			
25%	10	6,70			
75%	10		8,30		
100%	10			17,30	
OXACILINA	10				35,40
Sig.		,962	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

Diagrama de Caja y Bigotes



Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

Gráfico: 01: Efecto antimicrobiano del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina 1µg, en un estudio in vitro.

IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de evaluar “Efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina 1µg, se desarrolló el presente estudio experimental in vitro. Para lo cual se hizo la obtención del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto”, en diluciones del 100%, 75%, 50% y 25%, se comparó con el patrón de oxacilina 1µg y un control negativo con suero fisiológico (DMSO).

En la Tabla 1 se visualiza que la oxacilina tuvo, en promedio, un halo de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, superior a las obtenidas por las cuatro diluciones del aceite esencial de eucalipto. Asimismo, se observa que el mayor diámetro inhibitorio obtenido por el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* fue a la concentración de 100% (17,3 mm), lo cual señala que *Staphylococcus aureus* es sensible a dicha dilución, según lo establecido por el estándar de la Norma Técnica del Instituto Nacional de Salud del MINSA¹⁷. De la misma manera, el aceite esencial en concentración al 75%, 50% y 25%, que se pusieron en contacto con *Staphylococcus aureus* dieron valores considerados como resistentes.

Los resultados obtenidos del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” fueron al 25% un halo de inhibición de 6,7 mm (DS: $0,675 \pm 0,213$. IC 95% (6,22 – 7,18)) con un rango de 5 a 7 mm de halo de inhibición; a una concentración de 50% tiene un halo de inhibición de 6,4 mm (DS: $0,699 \pm 0,221$. IC 95% (5,9 – 6,9)) con un rango de 5 a 7 mm de halo de inhibición; a la concentración de 75% muestra un halo de inhibición de 8,3 mm (DS: $0,823 \pm 0,260$. IC 95% (7,71 – 8,89)) con un rango de 7 a 9 mm de halo de inhibición; siendo mayor el halo de inhibición a la concentración del 100% con 17.3 mm (DS: $1,494 \pm 0,473$. IC 95% (16,23 – 18,37) con un rango de 15 a 20 mm de halo de inhibición y el grupo control de oxacilina, tuvo un halo de inhibición de 35,4 mm (DS: $1,075 \pm 0,340$. IC 95% (34,63 – 36,17)) con un rango de 34 a 37 mm de halo de inhibición.

Los resultados son similares a Ibarra S.⁵, en la dilución al 100% de *Eucalyptus globulus*, obtiene un halo de 14,8 mm sobre *Enterococcus faecalis* Gram (+). De igual forma, Yañez X. et al.⁶ utiliza el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” sobre distintos microorganismos Gram (+): *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Enterococcus faecalis*, las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) del aceite esencial fueron: 12,4 µg/mL; 16,5 µg/mL y 23,4 µg/mL respectivamente, observándose mayor efecto antimicrobiano sobre *Staphylococcus aureus*.

Alvarado J. et al.⁷ con el extracto hidroalcohólico de *Eucalyptus globulus* obtiene halos inhibitorios frente *Staphylococcus aureus* (≥ 19 mm, a 500mg/ml de la hoja). Alzamora L. et al.⁸ utilizando aceite esencial de *Eucalyptus globulus* obtiene una sensibilidad de 13 mm frente a *Staphylococcus aureus* (valor mínimo para sensibilidad según Norma Técnica del Instituto Nacional de Salud del MINSA).

V. CONCLUSIÓN

- El aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalitpto” tuvo efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en un estudio in vitro, pero menor que oxacilina.
- El aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalitpto” al 100% tuvo mayor efecto antibacteriano.
- El aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalitpto” en dilución al 25%, 50%, 75% mostró resistencia según los estándares del MINSA¹⁷.
- La oxaciclina tiene mayor efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en un estudio in vitro.

VI. RECOMENDACIONES

- Se sugiere evaluar el efecto antimicrobiano de *Eucalyptus globulus* “eucalipto”, en distintos tipos de diluciones (extracto etanólico, extracto acuoso, entre otros).
- Se sugiere ampliar el estudio, valorando el efecto antimicrobiano de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” sobre diferentes cepas bacterianas (Gram positivas y negativas).
- Se puede evaluar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* frente a *Staphylococcus aureus*, mediante otras pruebas de susceptibilidad, como macro y microdilución en caldo de cultivo, Epsilon test, para contrastar resultados y precisar el efecto del mismo.
- Evaluar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” en animales de prueba como *Rattus rattus* “rata” como paso siguiente al estudio.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cervantes E, García R, Salazar P. Características geneales del *Staphylococcus aureus* [Internet]. 2014 [citado 15 abr 2017]; 61 (1): 28-40. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
2. Carmona E, Sandoval S, García C. Frecuencia y susceptibilidad antibiótica del *Staphylococcus aureus* proveniente de hisopados nasales en una población urbano marginal de Lima, Perú [Internet]. 2012 [citado 15 abr 2017]; 29(2):206-11. Disponible en: <http://www.scielo.org/pdf/rpmesp/v29n2/a06v29n2.pdf>
3. Bermejo V. et al. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en infecciones de piel y partes blandas en pacientes ambulatorios [Internet]. 2012 [citado 15 abr 2017]; 72(4):283-286. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/medba/v72n4/v72n4a02.pdf>
4. Instituto Nacional de Salud. Informe de la resistencia antimicrobiana en bacterias de origen hospitalario- 2012 [Internet]. 2012 [citado 15 abr 2017]. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/ier/cnsp_resanti_informesdevigilancia/INFORME_RESISTENCIA_ANTIMICROBIANA_2012.pdf
5. Ibarra S. Estudio in vitro del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) en comparación l hipoclorito de sodio al 2,5% y gluconato de clorhexidina al 2%, sobre cepa de *Enterococcus faecalis* [Internet]. 2014 [citado 23 abr 2017]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2796/3/T-UCE-0015-84.pdf>
6. Yáñez X, Cuadro O. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies *Eucalyptus globulus* y *E. camaldulensis* de tres zonas de Pamplona (Colombia) [Internet]. 2012 [citado 23 abr 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/903/90326398003.pdf>
7. Alvarado J, Vásquez V. Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Eucalyptus globulus* L. “eucalipto” a diferentes

concentraciones, en *Staphylococcus aureus* aislados de vacas con mastitis [Internet] 2014 [citado 13 may 2017]. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/306/BC-TES-3563.pdf?sequence=1>

8. Alzamora L. et al. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana *in vitro* de los Aceites Esenciales de Algunas Plantas Aromáticas [Internet]. 2001 [citado 23 abr 2017]; 62(2):156-161. Disponible en: revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/download/4167/3324
9. Tortora G. Introducción a la microbiología. 12° ed. España: Panamericana; 2017. p. 960.
10. Abbas N. et al. Robbins y Cotran – Patología estructural y funcional. 8° ed. España: Elsevier; 2010. p. 1464.
11. Mensa J et al. Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. Rev Esp Quimioter 2013; 26 (Supl. 1):1-84. Disponible en: <http://seq.es/seq/0214-3429/26/sup/guia.pdf>
12. Mediavilla A. Antibióticos β -lactámicos. Flórez J. Farmacología Humana. 6ta. ed. España: Elsevier Masson; 2014. p. 967–989.
13. Centro Nacional de Medicina Complementaria y Alternativa. ¿Qué es la medicina complementaria y alternativa?. Estados Unidos: Centro Nacional de Medicina Complementaria y Alternativa; 2007 [citado 07 may 2017]. Disponible en: <http://wellnessproposals.com/health-care/complimentary-and-alternative-medicine/what-is-cam-spanish-version.pdf>
14. Villar M, Villavicencio O. Manual de Fitoterapia. Peru: EsSalud, Organización Panamericana de Salud; 2001 [citado 07 may 2017]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/fitoterapia.html>
15. Ministerio de Salud. Gobierno de Chile. MHT. Medicamentos Herbarios Tradicionales. 103 especies vegetales. PROTEGE. Red de Protección

Social. [citado 16 may 2017]. Disponible en: <http://web.minsal.cl/portal/url/item/8da25ec6bc518db0e04001011f016739.pdf>

16. European Medicines Agency. Eucalipto, hoja de. Comité de Medicamentos a base de Plantas (HMPC); 2013 [citado 05 jun 2017] Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/Herbal_-_Summary_of_assessment_report_for_the_public/2014/06/WC500168587.pdf
17. Ministerio de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión. Perú: Instituto Nacional de Salud; 2002. Serie de Normas Técnicas N° 30 [citado 05 jun 2017]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua%20sensibilidad.pdf>
18. EPIDAT 4. Ayuda de muestreo. 2014;3: 21–23 [citado 12 jun 2017]. Disponible en: <https://www.coursehero.com/file/13881769/Ayuda-Epidat4-Muestreo-Octubre2014pdf/>
19. Pereyra C. Manual de laboratorio de química orgánica I. 3ra. ed. Mexico: UAM Azcopotzalco; 2007. p. 19–22.
20. Camaró M. Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. Cercenado E. Procedimientos en Microbiología Clínica. España: SEIMC; 2013.
21. Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio 3ra. edición. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2005.

VIII. ANEXOS

ANEXO 01

MUESTRA

TAMAÑO DE MUESTRA

$$n = \frac{(Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

Donde:

$Z_{\frac{\alpha}{2}}$: 1,96

Z_{β} : 0,842

X_1 : 13 mm Diámetro del halo de inhibición de la oxacilina.

X_2 : 14.8 mm Diámetro del halo de inhibición del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* "eucalipto"

σ : 2.2 mm

$$n = 9.36$$

Para el presente estudio se consideró 10 repeticiones por cada grupo de estudio

ANEXO 02

DETERMINACION TAXONOMICA DE PLANTAS POR EL HERBARIUM TRUXILLENSE

DESGLASABLE

Apellidos y Nombres: Amaya Goral Diego Alejandro DNI 47534019

Objeto de la Solicitud: (Indicar en forma clara lo que solicita y detallar documentos que adjunta)
Determinación taxonomica de plantas

Nº Procedimiento del TUPA: 142

Reulo N°: 153-150-1

Código: 10 días hábiles

DISTRIBUCIÓN GRATUITA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

FACULTAD U OFICINA Herbario HUT


FECHA 17/11/2017 HORA: 9:57am

RECEPCIONISTA: Eric F. Pedraza P.

AUTOMATICO ☐ S.A. (+) ☐ S.A. (-) ☐

PLAZO ATENCIÓN (Según TUPA): 07 días hábiles

REGISTRO FIRMA



ANEXO 02

PROCESO DE EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus* POR EL MÉTODO DE ARRASTRE DE VAPOR DE AGUA

1. Tratamiento de la muestra

Las plantas frescas de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” se obtuvieron en el distrito de Otuzco, departamento de La Libertad, en una cantidad de 6 Kg aproximadamente y se llevarán al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron las hojas con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada y se llevará a un horno a 30-35°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujaron manualmente las hojas secas hasta que se obtuvieron partículas muy pequeñas y se reservaron almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).

2. Obtención del Aceite Esencial

El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llene las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estaban conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estaba conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocaba en un embudo decantador tipo pera. Así, el balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasaba a través del ducto hacia el balón con la MS y arrastraba los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, y quedó el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual, se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización (no mayor a 8 días de preferencia).

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Se utilizó agar Muller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que se solidifique completamente.

PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD - DISCO DIFUSIÓN EN AGAR

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios de la Norma Técnica N° 30 del Instituto Nacional de Salud de Perú.

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus*, cultivado hace 24 horas, de tal modo que se observe una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml).

b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Staphylococcus aureus*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

c) Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 µL de AE y 250 µL de DMSO al tubo de

75%, 500 µL de AE y 500 µL de DMSO al tubo de 50%, y 250 µL de AE y 750 µL de DMSO al tubo de 25%.

d) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocaron 10 µL en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 µL de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 µL de AE al 50% en otro disco, 10 µL de AE al 75% en otro disco y 10 µL de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Staphylococcus aureus*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con Oxacilina 1µg (control positivo). Se dejó en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

f) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de *Eucalyptus globulus* y para la Oxacilina. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en las Norma Técnica N° 30 del Instituto Nacional de Salud de Perú.



ANEXO 03

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS PARA MEDIR EL TAMAÑO DE LOS HALOS DE INHIBICION (mm) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

PATOGENO <i>Staphylococcus</i> <i>Aureus</i> ATCC 25923	CONCENTRACION DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> “eucalipto”				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	100%	75%	50%	25%	OXACILINA 1ug	Suero Fisiológico
	Diámetro del halo de inhibición (mm)					
PLACA 1	16	9	6	5	36	0
PLACA 2	20	7	5	7	36	0
PLACA 3	17	7	6	7	34	0
PLACA 4	18	8	7	7	35	0
PLACA 5	19	9	7	7	36	0
PLACA 6	17	9	7	7	36	0
PLACA 7	16	8	6	7	37	0
PLACA 8	17	9	7	7	34	0
PLACA 9	18	8	6	6	36	0
PLACA 10	15	9	7	7	34	0
Promedio del diámetro del halo de inhibición	17.3	8.3	6.4	6.7	35.4	0

ANEXO 04

NORMAS DE BIOSEGURIDAD PARA EL TRABAJO EN LABORATORIO

1. Se usarán en todo momento monos, batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
2. Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan entrañar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados. Una vez utilizados, los guantes se retirarán de forma aséptica y a continuación se lavarán las manos.
3. El personal deberá lavarse las manos después de manipular materiales y animales infecciosos, así como antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio.
4. Se usarán gafas de seguridad, viseras u otros dispositivos de protección cuando sea necesario proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, impactos y fuentes de radiación ultravioleta artificial.
5. Estará prohibido usar las prendas protectoras fuera del laboratorio, por ejemplo, en cantinas, cafeterías, oficinas, bibliotecas, salas para el personal y baños.
6. No se usará calzado sin puntera.
7. En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
8. Estará prohibido almacenar alimentos o bebidas para consumo humano en las zonas de trabajo del laboratorio.
9. La ropa protectora de laboratorio no se guardará en los mismos armarios o taquillas que la ropa de calle